

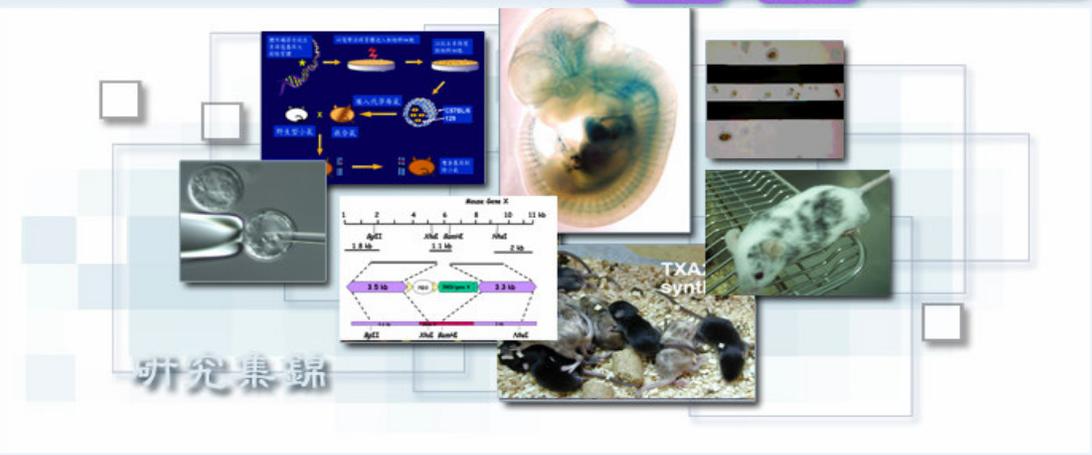
臺灣大學醫學卓越研究中心 97年度成果發表會

基因剔除鼠核心設施

http://140.112.133.74/ 移至

National Research Program for Genome Medicine
Transgenic Mouse Models Core
基因體醫學國家型計畫基因轉殖鼠核心實驗室

中文 ENGLISH



研究集錦

Transgenic Mouse Models Core (TMMC)
台大醫學院醫技系(台大醫院檢驗大樓5樓510室)
台北市中山南路7號
電話:(02)23123456 轉6907
傳真:(02)23817083
email: mtshuwaha@ntu.edu.tw

摘要

- 核心服務設施的價值
- 技術原理簡介
- 同仁使用本核心設施的研究方向
- 成果：

使用者統計
國際合作
舉辦學術活動
暑期課程
論文發表



核心服務設施的價值

(1) 解碼人類基因的功能

(2) 製造模擬人類疾病小鼠

為了瞭解我們的疾病與研發治療的方法

我們需要製造人類疾病的動物模型

“Knock-in (得到功能)”

及

“Knock-out (失去功能)”

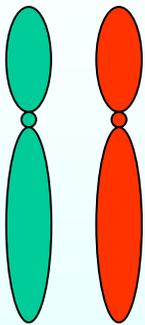
是改變小鼠基因的尖端科技

“世界潮流”

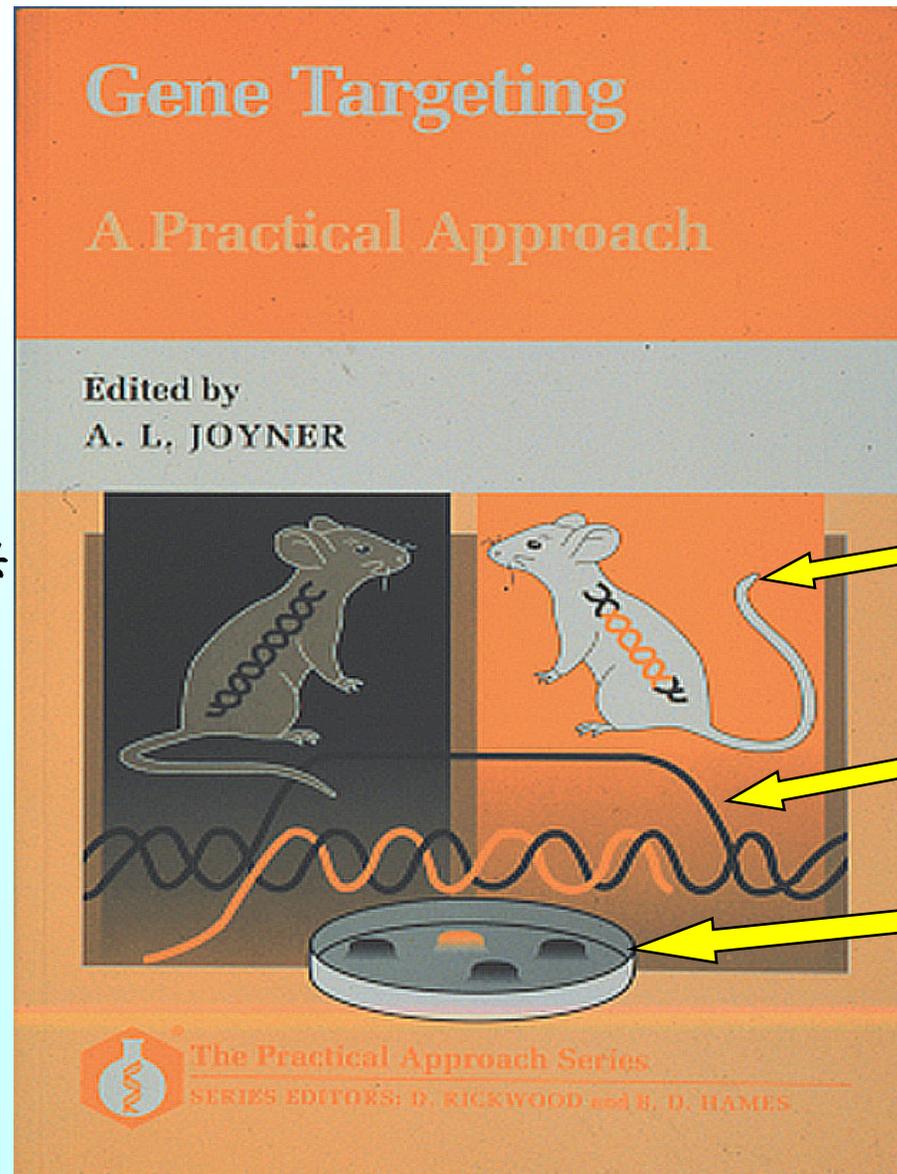
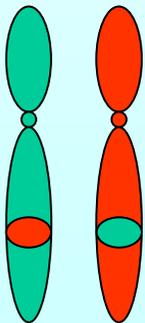
全世界的生物醫學研究群積極地建立人類每個基因的剔除小鼠

- (1) 歐洲成立了跨國的小鼠突變研究群協會，另有國際性組織。
- (2) 美洲也有多個全國性的研究中心。
- (3) 英國的Sanger Institute 在大藥廠支援下，正大規模建立基因剔除胚幹細胞株。
- (4) 加拿大預計貢獻2000個基因剔除小鼠。

小鼠基因剔除技術原理



同源染色體互換



基因剔除鼠

同源染色體互換

胚幹細胞

2007年諾貝爾醫學獎-“基因剔除鼠”



The Nobel Prize in Physiology or
Medicine 2007

"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"



Photo: U. Montan

Mario R. Capecchi

🕒 1/3 of the prize

USA



Photo: U. Montan

Sir Martin J. Evans

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom



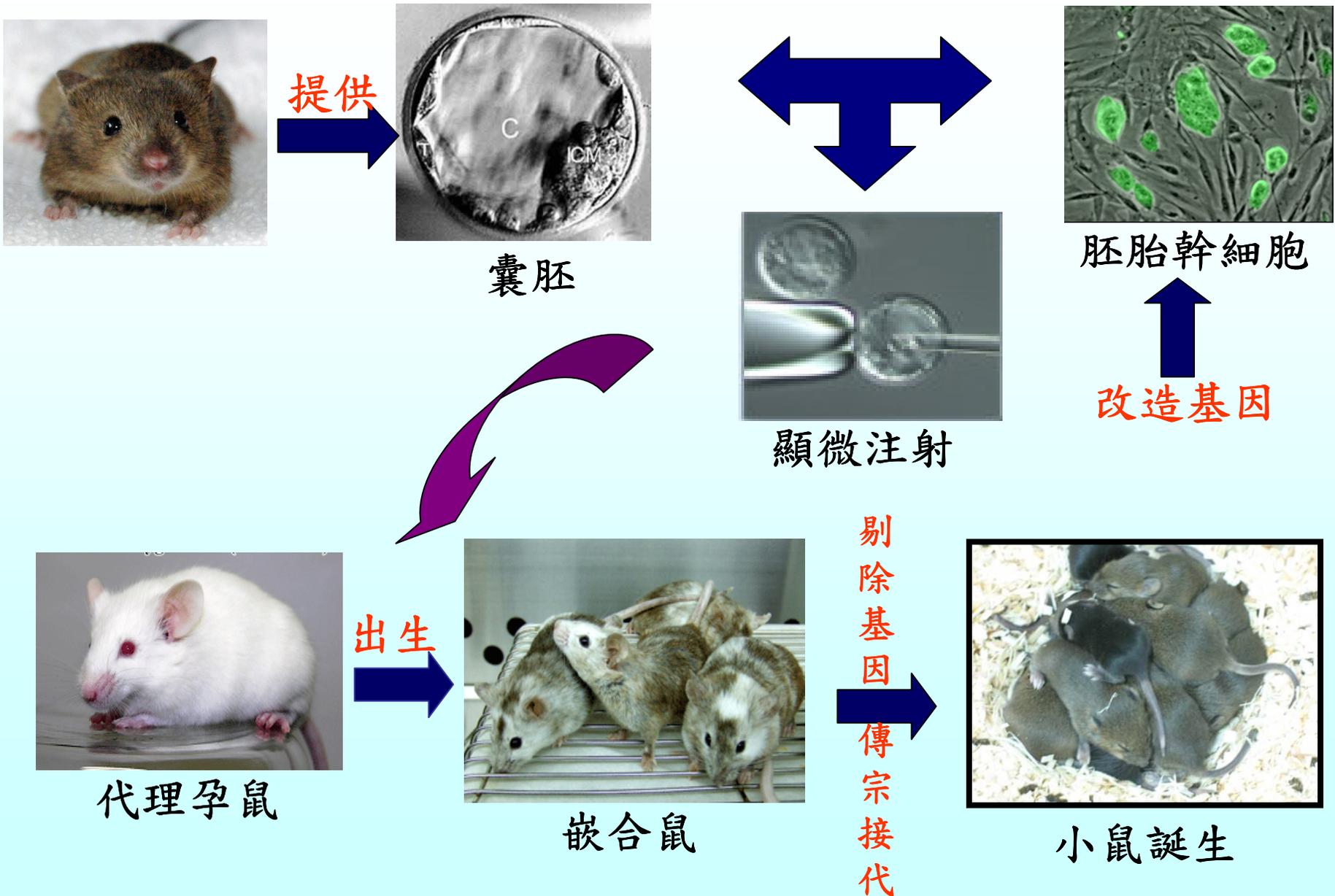
Photo: U. Montan

Oliver Smithies

🕒 1/3 of the prize

USA

基因剔除小鼠製備流程



研究者使用本核心的屬性

- 發現功能未知的新基因。
- 臨床上發現與疾病相關的**SNP**，希望作**knock-in**。
- 無法取得欲研究的基因剔除鼠。
- 先前的基因剔除鼠無法發育完成(**conventional KO**)，希望作組織特異式基因剔除。
- 已自國際的研究中心取得嵌入式(**insertional**)基因剔除胚胎幹細胞，希望作顯微注射。

研發成果與可提供的研究資源

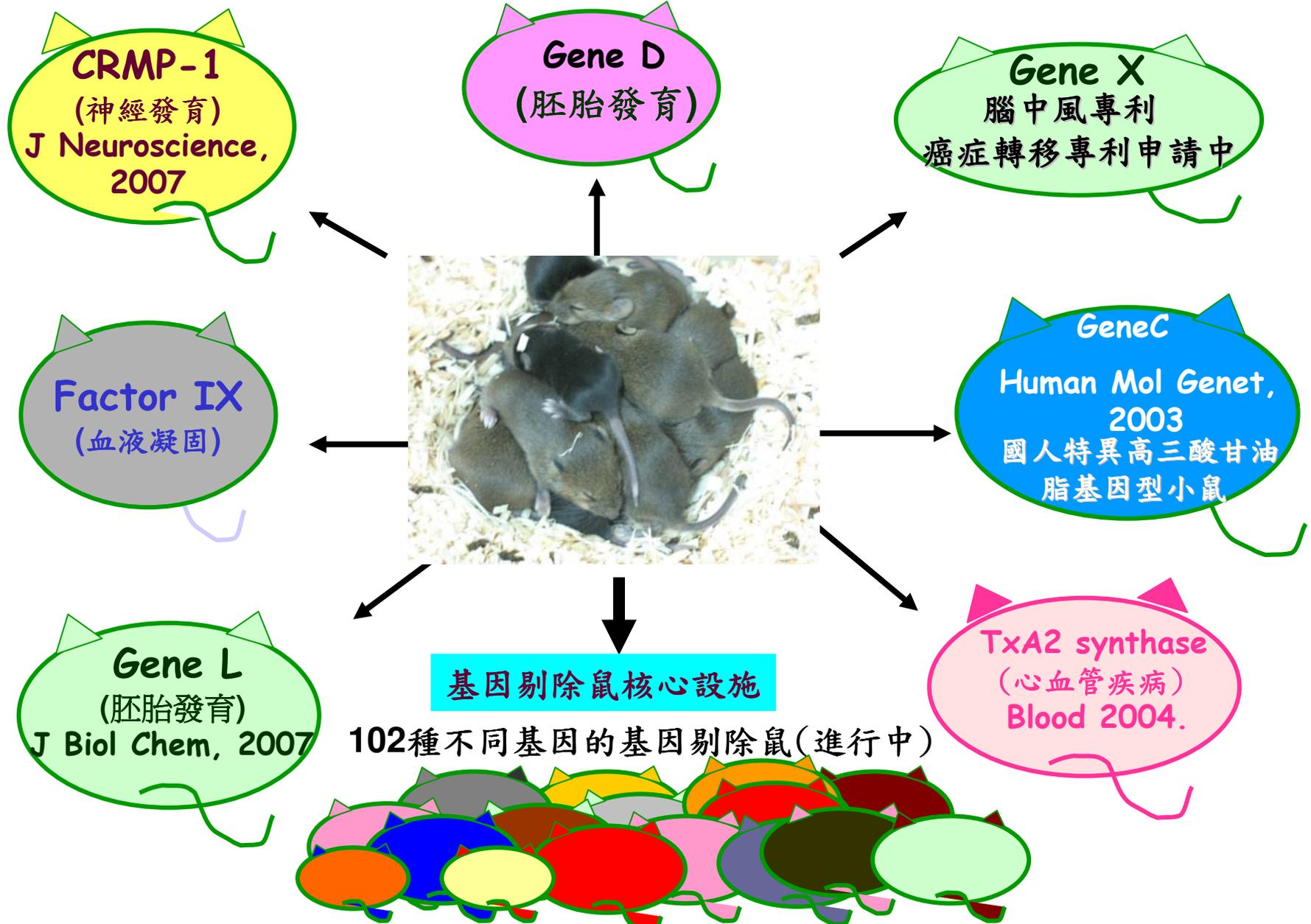
■ 疾病模型：

腫瘤、心血管、凝血、胚胎發育等十幾種。

■ 核心設施：

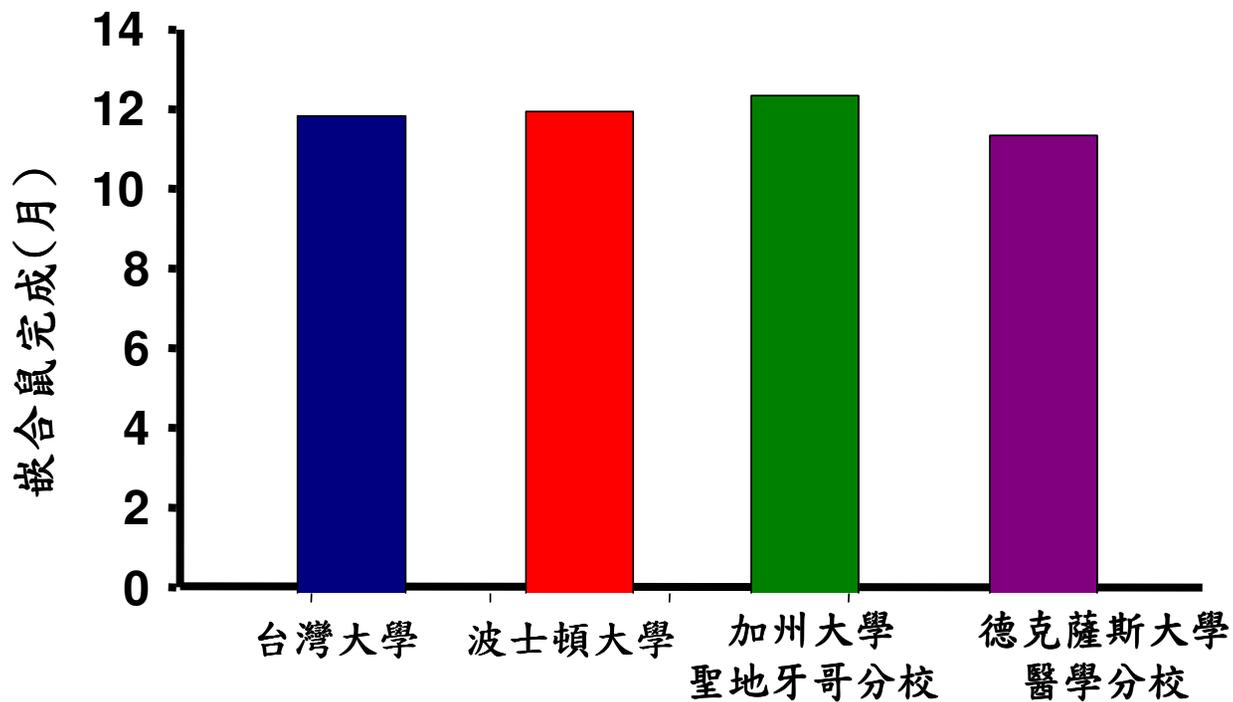
- 基因體醫學國家型核心設施
- 台大醫學卓越研究中心核心設施
- 目前已接受**120**個服務申請案件(包括**5**例國際合作)，已完成**45**個產出基因剔除小鼠個案。

“基因剔除鼠研究成果”



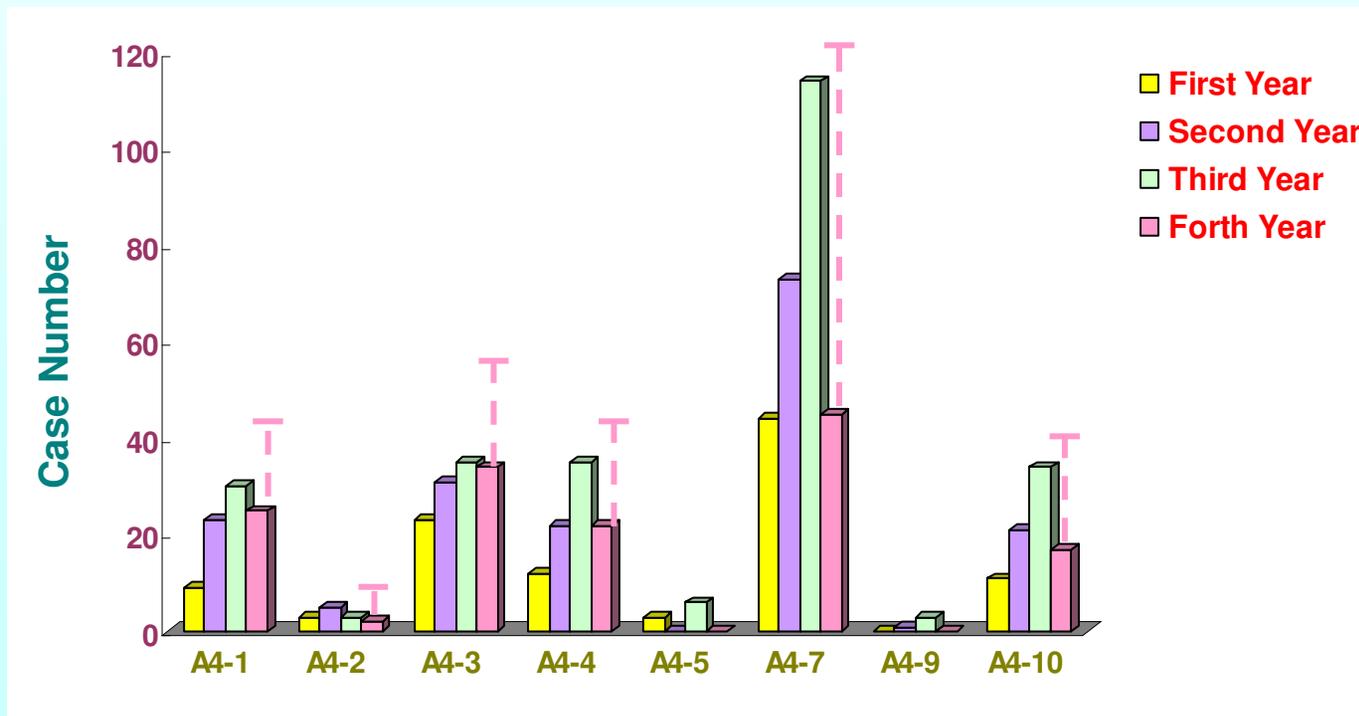
台大核心設施已發揮功能： 剔除小鼠製造速度達國際水準

核心實驗室嵌合鼠產製所需時間



Total gene=120 (up to Nov.13, 2008)

	Total Gene	A4-1	A4-2	A4-3	A4-4	A4-5	A4-7	A4-9	A4-10
First Year	19	9	3	23	12	3	44	0	11
Second Year	21	23	5	31	22	0	73	1	21
Third Year	36	30	3	35	35	6	114	3	34
Forth Year (Sept.20, 2008)	43	25	2	34	22	0	45	0	17



Summary of Services (since May, 2005)

Service item	Cases	Cases on going	Cases completed
A4-1 Targeting Construct Production	87	16	71
A4-2 ES Cell Gene Targeting	12	0 (1)	11
A4-3 Chimera Production	121	5 (44)	72
A4-4 Cre-loxP Based Gene Targeting of ES Cell	92	2 (23)	67
A4-5 Mouse Embryo Cryopreservation and Recovery	9	0	9
A4-6 Sperm Cryopreservation	0	0	0
A4-7 Screening of Targeted ES Cells	258	13 (60)	185
A4-8 Pathogen Free Rederivation	1	0	1
A4-9 Mouse Embryonic Fibroblast (E13.5)	4	0	4
A4-10 Cre/FLPe Recombinase Transfection	82	0 (27)	55

Summary of Services (breakdown by Case) (since May, 2005)

Service item	Total Cases	Aca. si 中研	NTU 台大	KMU 高醫	NCKU 成大	NYM 陽明	Biotech 產業	CYCU 中原	TSGH 三總	TCU 慈濟	NHRI 國衛院	NCU 中央	FJU 輔大	UW 國外
A4-1	87	12	39	2	12	2	0	2	5	3	4	1	0	5
A4-2	12	1	7	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0
A4-3	121	10	46	2	16	21	4	2	5	3	10	1	1	0
A4-4	92	14	40	2	10	11	2	2	5	3	4	1	1	0
A4-5	9	0	6	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
A4-6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A4-7	258	26	118	6	45	12	20	0	16	9	9	3	0	0
A4-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A4-9	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A4-10	82	10	38	2	12	5	2	2	5	3	4	1	0	0

Aca.Si : Academia Sinica, **NTU**: National Taiwan University, **KMU**: Kaohsiung Medical University
NCKU: National Cheng Kung University, **NYM**: National Yang-Ming University, **CYCU**: Chung Yuan Christian U.
TSGH: Tri-Service General Hospital, **TCU**: Tzu Chi University, **NHRI**: National Health Research Institutes
NCU: National Central University, **FJU**: Fu Jen Catholic University, **UW**: University of Washington

Summary of Services (breakdown by P.I.) (since May, 2005)

Service item	Aca. si 中研	NTU 台大	KMU 高醫	NCKU 成大	NYM 陽明	Biotech 產業	CYCU 中原	TSGH 三總	TCU 慈濟	NHRI 國衛院	NCU 中央	FJU 輔大	UW 國外
A4-1	7	20	1	8	2	0	1	2	2	3	1	0	1
A4-2	1	3	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
A4-3	6	22	1	9	7	1	1	2	2	4	1	1	0
A4-4	6	19	1	7	6	1	1	2	2	3	1	1	0
A4-5	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
A4-6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A4-7	5	19	1	7	4	1	0	2	2	2	1	0	0
A4-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A4-9	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A4-10	5	16	1	7	3	1	1	2	2	3	1	1	0

Aca.Si : Academia Sinica, **NTU**: National Taiwan University, **KMU**: Kaohsiung Medical University
NCKU: National Cheng Kung University, **NYM**: National Yang-Ming University, **CYCU**: Chung Yuan Christian U.
TSGH: Tri-Service General Hospital, **TCU**: Tzu Chi University, **NHRI**: National Health Research Institutes
NCU: National Central University, **FJU**: Fu Jen Catholic University, **UW**: University of Washington

國際案件合作

- Dr. Rudensky at University of Washington, Seattle has requested for KI of 5 genes.
- B6 BACs received on June 2nd, first construct completed on June 27th.

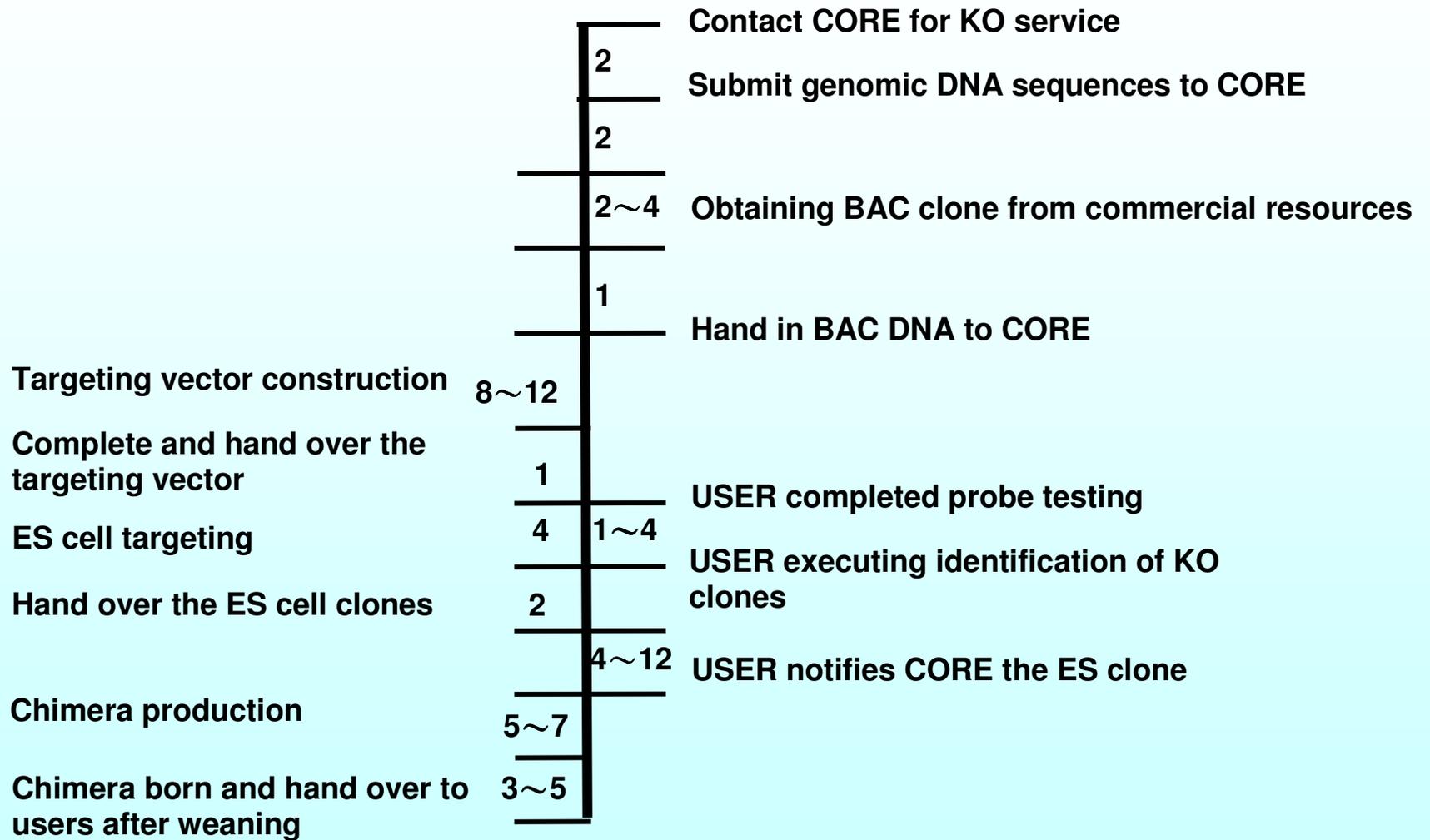
Services and Fees

NO	Item	Case	Academic	Non Academic
A4-1	Targeting Construct Production	per case	25,000	35,000
A4-2	ES Cell Gene Targeting	per case	60,000	80,000
A4-3	Chimera Production	per targeted ES clones	40,000	60,000
A4-4	Cre-loxP Based Gene Targeting of ES Cell	per case	60,000	80,000
A4-5	Mouse Embryo Cryopreservation and Recovery	per mouse line	20,000	40,000
A4-6	Sperm Cryopreservation	per mouse line	10,000	20,000
A4-7	Screening of Targeted ES Cells	Per 100 argeted ES clones	10,000	15,000
A4-8	Pathogen Free Rederivation	per mouse line	20,000	40,000
A4-9	Mouse Embryonic Fibroblast (E13.5)	per mouse line	10,000	15,000
A4-10	Cre/FLPe recombinase transfection	per case	30,000	40,000

Time frame for a typical KO mouse experiment

CORE

USER



34~52 weeks (8.5~13 months)

46~72 weeks (11.5~18 months for loxp/frt excision)

舉辦學術活動

Nobel Round Table Discussion



I emphasize the importance of choosing a branch of science that makes your everyday work enjoyable, as mine has been. I also emphasize for a scientist to have other interests for diversion when science is being frickle. Scientific happiness is in sharing ideas and the daily excitement of new results with students, colleagues, and other scientists.

--Oliver Smithies

Oliver Smithies

The Nobel Prize Laureate in Physiology of Medicine 2007

Knock Out! 揭露人類遺傳疾病的神奇小鼠

— 2007年諾貝爾生醫獎得主 Oliver Smithies 與你對談

Prof. Oliver Smithies 為 2007 年諾貝爾生理與醫學獎得主之一，與 Prof. Nobuyo Maeda 皆為美國北卡羅萊納大學 Chapel Hill 分校病理學與研究醫學之傑出學者。分別專精於小鼠模式建構與動脈硬化症研究。

2008年10月20日

台大醫學院基礎醫學大樓101講堂



Prof. Nobuyo Maeda and Prof. Oliver Smithies



活動流程

- | | |
|-------------|------------|
| 15:30-16:00 | 意見交流時間 |
| 16:00-16:10 | 開幕辭 |
| 16:10-17:20 | 大師與年輕學子的對談 |
| 17:20-17:30 | 閉幕辭 |

主辦單位：國立台大醫學院

協辦單位：國立台大醫學檢驗暨生物技術學系

財團法人跨世紀醫療促進基金會

台灣內科醫學會

台灣第一三共股份有限公司

輝瑞大藥廠

臺灣阿斯特捷利康股份有限公司

暑期課

教育部顧問室
【生物及醫學科技人才培育先導型計劃】

農業與海洋生物技術教學資源
中心(中興大學 葉錫東副校長)

國立台灣大學

夥伴學校

夥伴學校

醫學院醫技系、動物中心

醫學院醫技系
林淑華教授
方偉宏副教授

生物資源暨農學院
動科系 鄭登貴教授
吳信志助理教授

農學院
動科系

動物基因轉殖
與核轉殖尖端
生物技術
1學分
60人

生技法規與
管理
1學分

RNA干擾基
因轉殖動物
技術實驗
1學分
24人

動物核轉殖
技術實驗
1學分

課程內容(P1)

RNA干擾基因轉殖動物技術實驗（一學分）

日期	時間	主題	授課老師
8/18 (一)	08:00~18:00	小鼠胚胎RNA干擾原核顯微注射 小鼠胚胎體外培養與分析	林淑華、 游益興
8/19 (二)	08:00~18:00	RNA干擾轉殖胚胎基因型及表現型之分析 RNA干擾基因轉殖胚胎體外培養與殖入	林淑華、 游益興
8/20 (三)	08:00~18:00	RNA干擾基因轉殖細胞株轉染 小鼠原核RNA干擾基因自動化顯微注射 小鼠肝細胞初代分離培養	林淑華、 游益興
8/21 (四)	08:00~18:00	胚幹細胞培養及基因弱化株轉殖與篩選 RNA干擾基因轉殖小鼠胚胎融合技術	林淑華、 游益興
8/22 (五)	08:00~18:00	RNA干擾精子卵質內顯微注射(RNA-ICSI) 基因弱化小鼠核轉殖(Demo)	林淑華、 游益興

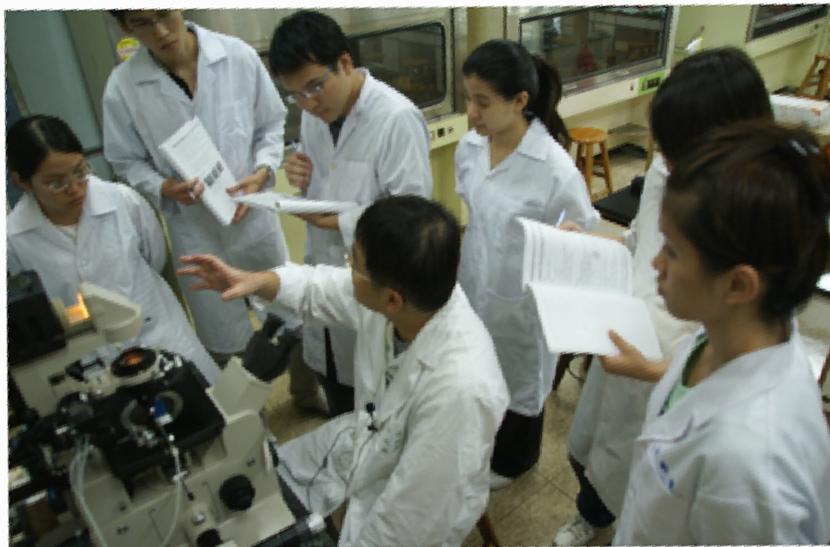
實驗課助教教學情形

游蓋興博士講解實驗操作

錄影帶觀摩



顯微注射儀操作解說



學員專注學習



"總結與展望"

- * 建立科技品牌
- * 強化技術與硬體設備
- * 團隊合作，提昇國際知名度
- * 落實與推廣核心設施

Before



Knock-in
Or
Knock-out

After



Supermice